



Title	Regulation of PD-L1 by microRNA in colorectal cancer with mismatch repair deficiency(内容・審査結果要旨)
Author(s)	芦澤, 舞
Citation	
Issue Date	2018-03-21
URL	http://ir.fmu.ac.jp/dspace/handle/123456789/748
Rights	Published version is "Mol Cancer Res. 2019 Jun;17(6):1403-1413. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-18-0831. © 2019 American Association for Cancer Research".
DOI	
Text Version	ETD

論文内容要旨

しめい 氏名	あしざわ まい 芦澤 舞
学位論文題名	<p>Regulation of PD-L1 by microRNA in colorectal cancer with mismatch repair deficiency (ミスマッチ修復機構欠損を有する大腸癌における microRNA による PD-L1 制御機構)</p>
<p>大腸癌の約 15%はミスマッチ修復機構欠損(dMMR)・マイクロサテライト不安定性(MSI-H)を示し、高い免疫原性と免疫細胞浸潤を伴うが、癌細胞表面の PD-L1、免疫細胞上の PD-1 などの免疫チェックポイント分子高発現により、T 細胞応答は抑制されている。dMMR/MSI-H 大腸癌に対して、免疫療法である PD-1/PD-L1 阻害剤が高い奏効率を示す。癌細胞の PD-L1 はサイトカイン等により転写誘導され、翻訳後に種々の修飾を受けるが、その詳細な発現制御機構は十分に解明されていない。マイクロ RNA(miRNA) は 18-25 塩基程度のタンパクをコードしない機能性 RNA であり、標的遺伝子に対し抑制的な転写後制御機構を担う。本研究は、dMMR/MSI-H 大腸癌における免疫抑制的微小環境下で、PD-L1 発現制御に関連する miRNA を同定し検証するものである。</p> <p>TCGA から得た 260 例の RNA シークエンスによる網羅的 miRNA 発現データを用いて、PD-L1 発現と逆相関し、かつ dMMR/MSI-H 大腸癌で発現低下している miRNA 候補を抽出した。さらに、複数の miRNA 標的予測アルゴリズムを用いて、PD-L1 mRNA の 3'UTR を標的とし得る miRNA として miR-148a-3p を同定した。410 例の大腸癌切除検体において、免疫染色による dMMR と PD-L1 発現は有意に関連していた。うち 73 例に対し qRT-PCR を行い、dMMR または PD-L1 陽性症例で miR-148a-3p 発現が低い傾向を認めた。大腸癌細胞株に miR-148a-3p を過剰発現させることで、細胞増殖能やコロニー形成能の低下やアポトーシスの増加を認め、miR-148a-3p の癌抑制的機能が確認された。HCT116 および SW837 の 2 つの細胞株において、miR-148a-3p 過剰発現による PD-L1 発現を qRT-PCR、ウエスタンブロット、フローサイトメトリーで評価し、mRNA・タンパク・細胞表面レベルでそれぞれ PD-L1 発現が抑制されることを確認した。さらに miR-148a-3p 過剰発現は、IFN-γ 投与下に誘導された癌細胞表面 PD-L1 発現をより強力に抑制した。大腸癌細胞株と T 細胞の共培養モデルを用いることで、癌細胞における miR-148a-3p 過剰発現が T 細胞に対する細胞障害性を低下させることを見出した。以上より、大腸癌において miR-148a-3p は、PD-L1 発現を制御することで、腫瘍微小環境における免疫応答を調整している可能性が示された。本研究により、大腸癌、特に dMMR/MSI-H 腫瘍において、miR-148a-3p の発現低下が PD-L1 高発現さらに腫瘍微小環境の免疫抑制機構に関与していることが示され、癌免疫療法の新たなバイオマーカーや治療標的としての miR-148a-3p の可能性が示唆される。</p>	

学 位 論 文 審 査 報 告 書

平成30年1月31日

大学院医学研究科長様

下記の通り学位論文の審査を終了したので報告いたします。

【審査結果要旨】

申請者氏名 芦澤 舞（消化管外科学分野）

学位論文名 Regulation of PD-L1 by microRNA in colorectal cancer with mismatch repair deficiency（ミスマッチ修復機構欠損を有する大腸癌における microRNA による PD-L1 制御機構）

ミスマッチ修復機構欠損を有する大腸癌（dMMR）はマイクロサテライト不安定性を示し、高い免疫原性と免疫細胞浸潤を伴う。また、免疫チェックポイント分子の発現が高く T 細胞応答は抑制されており、免疫チェックポイント阻害剤である PD-1/PD-L1 阻害剤が高い効果を示すことが知られている。本研究は、dMMR において PD-L1 発現を制御に関連するマイクロ RNA（miRNA）を探索・同定し、その機能を明らかにすることを目的とした。二段階のスクリーニングを組み合わせることで、PD-L1 発現を制御する新規 miRNA である miR-148a-3p を同定した。大腸癌切除検体において PDL-1 陽性症例で miR-148a-3p 発現が低い傾向を確認した。さらに、大腸癌由来培養細胞を用いて、miR-148a-3p 過剰発現により、1) 細胞増殖能やコロニー形成能が低下すること、2) PD-L1 発現を抑制すること、3) IFN- γ により誘導された PD-L1 発現を強く抑制すること、4) T 細胞による細胞障害性を低下させること、を示した。これらの結果から、miR-148a-3p が PD-L1 発現を抑制し、腫瘍微小環境における免疫反応を調節している可能性を示した。

用いられた研究手法は十分に科学的であり、得られた結果も極めてオリジナルである。miR-148a-3p を標的とした癌治療研究などの発展性についても提示した優れた論文であり、学位に値すると評価できる。

論文審査委員 主査 本間 好
副査 下村 健寿
副査 引地 拓人